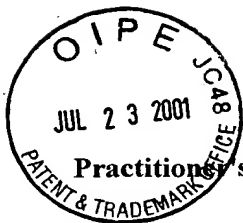


GAU 1621



Practitioner's Docket No. U 013455-8

PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of: William MARRITT

Serial No.: 09/855,128

Filed: MAY 14, 2001

For: PROCESS FOR THE MANUFACTURE OF POLYURONIC ACIDS

Group No.: 1621

Examiner:

RECEIVED

JUL 26 2001

TECH CENTER 1600/2900

Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

TRANSMITTAL OF CERTIFIED COPIES

Attached please find the certified copy of the foreign application from which priority is claimed for this case:

Country: JAPAN
Application Number: 2000-140542
Filing Date: May 12, 2000

Country: JAPAN
Application Number: 2000-151663
Filing Date: May 23, 2000

Country: JAPAN
Application Number: 2001-141271
Filing Date: May 11, 2001

CERTIFICATE OF MAILING (37 C.F.R. 1.8a)

I hereby certify that this paper (along with any paper referred to as being attached or enclosed) is being deposited with the United States Postal Service on the date shown below with sufficient postage as first class mail in an envelope addressed to the Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231.

Date: July 19, 2001

Clifford J. Mass

(type or print name of person mailing paper)

Signature of person mailing paper

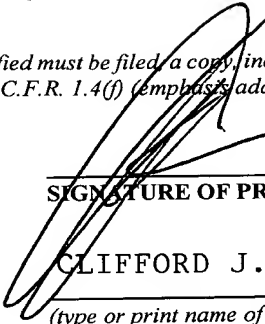
(Transmittal of Certified Copies—page 1 of 2) 5-5

WARNING: *"When a document that is required by statute to be certified must be filed, a copy, including a photocopy or facsimile transmission of the certification is not acceptable." 37 C.F.R. 1.4(f) (emphasis added).*

Reg. No.: 30,086

Tel. No.: (212) 708-1890

Customer No.:



SIGNATURE OF PRACTITIONER

CLIFFORD J. MASS

(type or print name of practitioner)

P.O. Address

c/o Ladas & Parry
26 West 61st Street
New York, N.Y. 10023

NOTE: *"The claim to priority need be in no special form and may be made by the attorney or agent, if the foreign application is referred to in the oath or declaration, as required by § 1.63." 37 C.F.R. 1.55(a).*



日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

RECEIVED
JUL 26 2001
TECH CENTER 1600/2900

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 5月12日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-140542

出 願 人

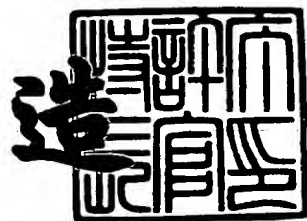
Applicant(s):

セイコーエプソン株式会社

2001年 5月30日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3048167

【書類名】 特許願

【整理番号】 J0078670

【提出日】 平成12年 5月12日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C09D 11/00

【発明者】

 【住所又は居所】 長野県諏訪市大和3丁目3番5号 セイコーエプソン株式会社内

 【氏名】 ウィリアム マリット

【特許出願人】

 【識別番号】 000002369

 【氏名又は名称】 セイコーエプソン株式会社

 【代表者】 安川 英昭

【代理人】

 【識別番号】 100093388

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 鈴木 喜三郎

 【連絡先】 0 2 6 6 - 5 2 - 3 1 3 9

【選任した代理人】

 【識別番号】 100095728

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 上柳 雅誉

【選任した代理人】

 【識別番号】 100107261

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 須澤 修

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 013044

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9711684

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ポリグルロン酸の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) アルギン酸を水酸化リチウムで中和することによって水に溶解させアルギン酸を5重量%以上含む酸性溶液を得る工程と、

(b) 前記溶液に過酸化水素および鉄塩を加えることによってアルギン酸を酸化させる工程と、

(c) 酸化反応が終了した後、ポリグルロン酸を含む溶液を不溶性鉄生成物から分離する工程と、

(d) 前記溶液のpHを調節してポリグルロン酸を選択的に沈殿させる工程と、

(e) 反応混合液からポリグルロン酸を分離する工程

とからなることを特徴とする、重合度が20未満の、実質的にマンヌロン酸不純物を含まないポリグルロン酸を製造する方法。

【請求項 2】 アルギン酸を水酸化リチウムで中和することによって得られる酸性溶液のpH値が3.5以上、5.0以下であることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】 添加する過酸化水素水溶液として過酸化水素を使用することを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】 使用される過酸化水素の好ましい量がアルギン酸に対して25 mole%ないし160 mole%の範囲にあることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】 鉄塩は第一鉄塩であることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 6】 使用される鉄塩の好ましい量が過酸化水素に対して0.01 mole%ないし10 mole%の範囲にあることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】 溶液のpHを2.5以上、3.3以下に調節することにより、ポリグルロン酸を選択的に沈殿させることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】 アルギン酸の分子量が 50,000 g/mole 以下であることを特徴とする請求項 1 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は重合度が20未満で、実質的にマンヌロン酸不純物を含まないポリグルロン酸の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

ポリグルロン酸は、カルシウムイオンに対して高い親和性を有するために、スケール防止剤およびスケール除去剤として有用であるものと期待される。ポリグルロン酸の生分解性は、環境への適応性および廃棄物処理の観点からポリグルロン酸を特に価値のあるものにする。また、ポリグルロン酸の還元末端に疎水性ポリマーを共有結合させたポリグルロン酸誘導体は、インクジェットプリンターに使用される顔料分散水性インク組成物に使用される分散剤として有用である。さらに、重合度の低いポリグルロン酸は、大麦の根の成長を促進する活性を示すことが明らかにされている (M. Natsumeら、"Isolation and Characterization of Alginate-derived Oligosaccharides with Root-Growth Promoting Activities," Carbohydrate Research, 258, 187-197 (1994))。ポリグルロン酸は、もみ殻を取った米およびタバコの瘤(callus)において発芽促進活性および若芽伸長活性を示すことも明らかにされている (Y. Yonemotoら、"Promotion of Germination and Shoot Elongation of Some Plants by Alginate Oligomers Prepared with Bacterial Alginate Lyase," Journal of Fermentation and Bioengineering, 75, 68-70 (1993))。他のポリウロン酸の研究からは、低分子量ポリグルロン酸が抗ウイルス、抗腫瘍および植物防御刺激活性を示すことも期待される。

【0003】

ポリグルロン酸を得ることができるアルギン酸は、1→4結合した α -L-グルロン酸 (G) および β -D-マンヌロン酸 (M) の非分岐ポリマーであり、両者の比率および配列は様々である。アルギン酸分子の典型的な構造は模式的に次のように表される。

MMMMMMGMGGGGGGGMGMGGGGGGGGGMMGMGMGMGM

←Mブロック→ ←Gブロック→ ← Gブロック →←MGブロック →

上記構造から分かるように、アルギン酸塩中のモノマーの分布は無秩序でもないし、規則的なくり返し配列でもない。アルギン酸は、ポリグルロン酸配列（Gブロック）、ポリマンヌロン酸配列（Mブロック）およびグルロン酸とマンヌロン酸が無秩序に配置された配列（MGブロック）が存在するブロック共重合体として最もよく表される。

【0004】

アルギン酸塩、すなわちアルギン酸の塩は加水分解することができること、そして加水分解生成物を分離するとポリグルロン酸およびポリマヌロン酸の2種類の主要ホモポリマー成分に分離することができることは良く知られている。最もよく使用されているポリグルロン酸ナトリウム塩を調製する方法は、A. Haugら、「アルギン酸中のウロン酸残基の配列に関する研究(Studies on the Sequence of Uronic Acid Residues in Alginic Acid)」, Acta Chemica Scandinavica, 21, 691-704 (1967)に開示されている不均一系酸加水分解法である。そこに記載されている酸加水分解では、アルギン酸ナトリウム塩1部を0.3 M塩酸20部に懸濁させる必要がある。アルギン酸は強酸性溶液に不溶であるため、加水分解は不均一反応である。不均一な混合液を100℃で、10時間以上加熱し、固体を遠心分離法または濾過によって酸性溶液から分離する。集めた固体を希水酸化ナトリウム水溶液で中和することによって溶解させた後、その溶液に0.3M塩酸20部を加え、部分的に加水分解したアルギン酸を再沈殿させる。生成した不均一混合液をさらに100℃で、10時間以上加熱し、固体を遠心分離または濾過によって再び酸性溶液から分離する。集めた固体を希水酸化ナトリウム水溶液で中和することによって溶解し、つづいて塩化ナトリウムと水を加え、0.5 重量%アルギン酸塩および0.1 M塩化ナトリウムの溶液を得る。ほぼ同量の0.025 M塩酸を前記アルギン酸塩溶液に加えてpHを2.85に調整する。沈殿した固体を遠心分離または濾過によって酸性溶液から分離する。単離した固体を希水酸化ナトリウム水溶液で中和することにより水に溶解し、つづいて過剰のエタノールで沈殿させる。沈殿した固体をエタノールで洗い、そしてさらにエーテルで洗い、乾燥する。この不均一系

酸加水分解によって調製されるポリグルロン酸ナトリウム塩の平均重合度は、15ないし20である。マンヌロン酸の含有量は5ないし15%で、生成物の収率は15ないし20%である。

【0005】

不均一系酸加水分解の第一工程でアルギン酸塩の約30%が溶解する。第二工程で最初のアルギン酸塩のさらに15%が溶解する。両工程の後で単離される不溶成分にはポリグルロン酸とポリマンヌロン酸の両方が含まれている。ポリグルロン酸とポリマンヌロン酸の両方のナトリウム塩を含む希薄溶液を酸性化するとポリグルロン酸が選択的に沈殿する。

【0006】

A. Haugらの不均一系酸加水分解法は実験室規模でポリグルロン酸を調製するのには有用であるが、工業生産に使用する場合のように大規模に実施するのは困難と思われる。その理由は、この方法の分離工程におけるアルギン酸の濃度は0.25重量%で、極めて薄い点にある。また、この方法は多くの工程からなり複雑である。

【0007】

GB 1,250,516には、酸化剤として過酸化水素または次亜塩素酸ナトリウムを使用して水溶性の多糖アニオンを分解する方法が開示されている。候補となる多糖アニオンとしては、アルギン酸のカリウム塩、ナトリウム塩およびアンモニウム塩が含まれる。分解した多糖アニオン生成物の15重量%溶液は20°Cで10ないし50センチポアズの粘度を有することが特許請求の範囲に記載されている。これに対し、本発明のポリグルロン酸塩の15重量%溶液の粘度は、20°Cで4センチポアズ未満であるという特徴を有する。

【0008】

A. Haugらの"Development of Compositional Heterogeneity in Alginate Degraded in Homogeneous Solution," *Acta Chemica Scandinavica*, 23, 2955-2962 (1969)には、250mol%過剰の過酸化水素を使用するアルギン酸ナトリウム塩の分解が報告されている。分解試料の平均重合度は41と報告されている。これに対し、本発明のポリグルロン酸の平均重合度は20未満であるという特徴を有する。

【 0 0 0 9 】

P.S.O' Collaらの "The Action of Fenton's Reagent on Acidic Polysaccharides," *Proceedings of the Chemical Society*, 68-69 (1962)には、アルギン酸ナトリウム塩など、酸性多糖類の、過酸化水素水溶液および酢酸第二鉄による分解が報告されている。アルギン酸ナトリウム塩は速やかに低分子量の透析可能な物質に分解されることが報告されている。この刊行物には透析の条件および生成物の同定については記載されていない。

【 0 0 1 0 】

O.Smidsrodら、"Kinetic Studies on the Degradation of Alginic Acid by Hydrogen Peroxide in the Presence of Iron Salts," *Acta Chemica Scandinavica*, 19, 143-152 (1965)には、粘度測定および滴定による、鉄塩存在下における過酸化水素水によるアルギン酸ナトリウム塩の分解の調査結果が報告されている。アルギン酸塩分子の結合のわずか0.1ないし1%しか切断されていない限定された事例では、アルギン酸塩の分解速度は J. Weissの理論 (*Advan. Catalysis*, 4, 31 (1952)) とよく一致している。この理論によれば、基質に対するヒドロキシルラジカルの攻撃が含まれており、次式で表される：アルギン酸塩 + OH· → 生成物。O.Smidsrodらによるこの研究およびそれ以前の研究 ("Degradation of Alginate in the Presence of Reducing Compounds," *Acta Chemica Scandinavica*, 17, 2628-2637 (1963)) の両方で、ヒドロキシルラジカルによるアルギン酸塩の最終分解生成物は同定されていない。

【 0 0 1 1 】

上に記した O' Collaらおよび Smidsrodらの報告は、アルギン酸が過酸化水素水と鉄塩との組み合わせによって分解されることを明らかにしている。さらに、過酸化水素水は、単独で使用するよりも鉄塩と組み合わせた方が効果が大きいことが O. Smidsrodらの初期の研究において示唆されている (*Acta Chemica Scandinavica*, 17, 2628-2637 (1963))。しかし、これらの刊行物は、たとえばGブロックが、MブロックまたはMGブロックと異なる速度で分解すること、即ちこれらの分解に選択性があるということを何ら示唆するものではない。A. Haugらの報告 (*Acta Chemica Scandinavica*, 23, 2955-2962 (1969)) では、粘度測定によ

る分解の初期段階に関する研究に基づいて、過酸化水素水と還元性化合物によるアルギン酸塩の非選択的なランダム解重合が言及されている。これらの研究に基づけば、過酸化水素水と鉄塩によるアルギン酸塩の分解反応でも、非選択的なランダム解重合を予想することは不合理なことではない。過酸化水素水と鉄塩が、アルギン酸を低分子量の生成物に分解するのに有用であることを示す例は多いが、反応は非選択的であると報告されており、生成物は同定されていないため、これらの分解反応がポリグルロン酸の製造に有用なものとなりうるということを何ら示唆するものではない。

【 0 0 1 2 】

【発明が解決しようとする課題】

上で述べたように工業的な規模でポリグルロン酸を製造する方法は依然として必要とされている。具体的には、工程を通してアルギン酸またはアルギン酸の塩の濃度が5重量%より高い方法が必要とされている。

【 0 0 1 3 】

【課題を解決するための手段】

本発明の目的は、重合度が20未満の、実質的にマンヌロン酸不純物を含まないポリグルロン酸を製造するための実用的な方法を提供することである。

【 0 0 1 4 】

本発明の発明者は、過酸化水素と鉄塩との組み合わせは妥当な選択性で濃アルギン酸溶液を酸化し、容易にポリグルロン酸を単離できる溶液が得られることを発見した。鉄塩を組み合わせないで過酸化水素を単独で使用した場合は、温度を高くしてもアルギン酸の酸化は遅い。その上、鉄塩不在で過酸化水素を使用して得られるポリグルロン酸生成物は重合度が20より高く、かなり多量のマンヌロン酸不純物を含んでいる。さらに、本発明の発明者は、過酸化水素／鉄塩による酸化のための5重量%以上の濃アルギン酸溶液は、アルギン酸の中和に水酸化リチウムを使用することによって得られることを発見した。これらの知見の組み合わせが本発明の基礎をなしている。

【 0 0 1 5 】

本発明によれば、次に挙げる工程からなることを特徴とする重合度が20未満の

、実質的にマンヌロン酸不純物を含まないポリグルロン酸の製造方法を提供することができる。まず、アルギン酸を水酸化リチウムで中和することによって水に溶解し、アルギン酸を5重量%以上含む溶液を得る。第二に、前記溶液に過酸化水素および鉄塩を加えることによってアルギン酸を酸化する。第三に、酸化反応が終了した後、ポリグルロン酸を含む溶液を不溶性鉄生成物から分離する。第四に、前記溶液のpHを調節してポリグルロン酸を選択的に沈殿させる。最後に、通常の方法によってポリグルロン酸を分離する。

【 0 0 1 6 】

【発明の実施の形態】

本発明は、重合度が20未満の、実質的にマンヌロン酸不純物を含まないポリグルロン酸を製造するための実用的な方法を開示する。実質的にマンヌロン酸を含まないとは、マンヌロン酸の重量パーセントが、8重量%以下、より好ましくは5重量%以下であると定義する。

【 0 0 1 7 】

上で言及したように、アルギン酸は過酸化水素水と鉄塩の組み合わせによって、出発物質より分子量の小さい生成物へと分解されるが、該生成物を同定することはできていないということが知られている。しかし、たとえばGブロックが、MブロックまたはMGブロックとは異なった速度で分解すること、即ちこれらの分解に選択性があるということは何ら示唆するものではない。粘度測定による分解の初期段階に関する研究から、過酸化水素水と還元性化合物、たとえば還元された鉄塩によるアルギン酸塩の解重合は、ランダム、すなわち非選択的であると報告されている。初期段階の分解とは、切断可能な高分子鎖の結合の切断が1%未満の段階と定義する。

【 0 0 1 8 】

同じタイプの粘度測定によるアルギン酸塩の分解の初期段階の研究によれば、異なる形式の分解、すなわち均一系酸加水分解によるアルギン酸塩の解重合も非選択的でランダムであると報告されている。しかし、それに対して、B. Larsenらの研究、Acta Chemica Scandinavica, 23, 1573 (1969) は、単離されたGブロックおよびMブロックの酸加水分解速度が、かなりの選択性を示すことを示唆し

ている。具体的には、溶液のpH2.8におけるMブロックの加水分解の速度定数は、Gブロックの加水分解の速度定数より4.3倍大きいと報告されている。従って、酸加水分解によるアルギン酸の分解の場合、解重合が非選択的でランダムであるという主張は、解重合の初期段階に対してのみ有効である。

【 0 0 1 9 】

理論と結びつけようとしなくても、本発明の発明者は、酸加水分解に見られる同じタイプの選択性が、過酸化水素および鉄塩によるアルギン酸の解重合でも成立するものと考ええる。具体的には、本発明の発明者は、Gブロックは、MブロックまたはMGブロックに較べ過酸化水素および鉄塩による解重合に対して強い抵抗性を有するものと考えている。この選択性の結果、解重合が反応終了に近づくにつれて、低分子量ポリグルロン酸が、低分子量のMブロックまたはMGブロックより優先的に残る。言い換えれば、解重合が進んだいかなる重合形態でも、マンヌロン酸、マンヌロン酸二量体およびマンヌロン酸-グルロン酸二量体の量はグルロン酸およびグルロン酸二量体の相当する量より多くなる。その結果、解重合が進んだアルギン酸溶液中の低分子量ポリグルロン酸の濃度はいちじるしく高くなる。

【 0 0 2 0 】

本発明に使用される出発原料アルギン酸は、市販のアルギン酸であればどれでも使用することができる。ポリグルロン酸は目的生成物であるためグルロン酸に富むアルギン酸が好ましい。海藻*Laminaria hyperborea*および*Lessonia flavicans*から抽出されるアルギン酸は特にグルロン酸に富み、グルロン酸とマンヌロン酸の比は約2対1である。反応液の粘度を比較的低く維持するため、低平均分子量のアルギン酸が出発原料として好ましい。本発明では、分子量が50,000 g/mole以下のアルギン酸が好ましい。好ましい出発原料は、紀文フードケミファから入手可能な「超低粘度アルギン酸(Ultra Low Viscosity Alginic Acid)」である。

【 0 0 2 1 】

本発明の重要な点は、アルギン酸を中和するために水酸化リチウムを使用することにより、過酸化水素および鉄塩による酸化のための5重量%以上のアルギン酸溶液が得られることである。グルロン酸に富む出発原料アルギン酸に対しては

、アルギン酸の中和に水酸化リチウムを使用した時のみ、濃厚な溶液を得ることができる。グルロン酸含有量がそれほど高くない出発原料アルギン酸の場合（従ってポリグルロン酸を得るにはあまり好ましくない場合）には、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化ルビジウム、水酸化セシウムなど、他のアルカリ金属水酸化物を使うことができる。しかし、出発原料アルギン酸の組成にかかわらず、水酸化リチウムによる中和では、他のアルカリ金属水酸化物を使用した場合より高濃度な溶液を得ることができる。本発明の場合、取扱いの容易さから、水酸化リチウム一水和物が水酸化リチウムの好ましい形である。

【 0 0 2 2 】

アミンのような有機塩基も、濃厚な溶液を得るためにアルギン酸の中和に使用することができる。しかし、中和によって生成するプロトン化有機塩基は、過酸化水素によって容易に酸化されるため、有機塩基は本発明に対して有用ではない。プロトン化された有機塩基ではなく、アルギン酸を酸化することが目的であるため、たとえ有機塩基がアルギン酸の中和に作用するとしても、アルギン酸とプロトン化有機塩基の間で競争的な酸化が起きることは望ましくないし無駄なことである。

【 0 0 2 3 】

本発明の第1工程では、アルギン酸を水酸化リチウムで中和することによって水に溶解し、アルギン酸を5重量%以上含む溶液を得る。中和に使用される水酸化リチウムの量は、溶液のpHを3.5以上、5.0以下に調節する相当量である。市販級のアルギン酸の場合、このpH範囲に調製した溶液は通常少量の不溶性不純物を含む。もし必要であれば、過酸化水素および鉄塩を加える前に濾過すれば、容易にこれらの不純物を除くことができる。pHが3.5より低いとアルギン酸が完全には溶けない。また、pHが5.0より高いと鉄塩の溶解性が低くなり、そのため酸化が著しく遅くなる。Kibun Food Kemifaの「超低粘度アルギン酸」の場合、77mol e%の水酸化リチウム一水和物で中和するとpH約4.1の溶液が得られる。

【 0 0 2 4 】

次の工程では、過酸化水素および鉄塩を加えてアルギン酸を酸化する。100%過酸化水素は微量不純物の存在によって激しく分解することが知られているため

、添加する過酸化水素は、過酸化水素水が好ましい。過酸化水素水は3ないし90%の濃度のものが市販されている。本発明では、濃度が30ないし50%の過酸化水素溶液が好ましい。本発明では低分子量ポリグルコン酸を得るため、過酸化水素の使用量は、単量体ウロン酸単位に基づいて176 g/moleの分子量を持つアルギン酸に対して25ないし160 mole%の範囲にあることが好ましい。より好ましくは、過酸化水素の量は、アルギン酸に対して45ないし120 mole%の範囲であり、さらに好ましくは、65ないし105 mole%の範囲である。

【 0 0 2 5 】

鉄塩は、鉄を含むいかなる塩でもよいが、第一鉄塩が好ましい。そして、濃厚なアルギン酸溶液のpH範囲で可溶性であるため、第一鉄塩の方が第二鉄塩より好ましい。使用可能な第一鉄塩には次のものがあるが、これらに限られるものではない：臭化第一鉄、塩化第一鉄、グルコン酸第一鉄、ヨウ化第一鉄、乳酸第一鉄、硫酸第一鉄および過塩素酸第一鉄。第一鉄塩の水和物は取扱い易いため好ましい。市販の第一鉄塩水和物の中で硫酸第一鉄七水和物がコストの点から好ましい。第一鉄塩の量は過酸化水素に対して0.01ないし10 mole%の範囲が好ましく、0.05ないし5 mole%の範囲がより好ましい。そして、0.1ないし1 mole%の範囲がさらに好ましい。第一鉄塩水和物は固体で加えてもよいし水溶液で加えてもよいが、水溶液で加える方が好ましい。

【 0 0 2 6 】

過酸化水素および鉄塩は同時に添加しても良いし、添加の順序を問わないで順次アルギン酸溶液に加えても良い。好ましい実施例では、過酸化水素水を最初に加え、その後で鉄塩溶液を加える。加える時とそれに続く酸化時には、アルギン酸溶液を激しく攪拌することと十分冷却するのが良い。酸化反応は激しい発熱反応であるため、冷却することが重要である。

【 0 0 2 7 】

すべての過酸化水素が消費され、鉄塩が空気酸化によって不溶性鉄生成物になるまで、過酸化水素／鉄塩による酸化反応を行う。酸化反応の終点は、発熱が収まることと、過酸化水素の分解による発泡が止むことによって示唆される。反応の終了は、溶液から赤褐色の不溶性鉄生成物が分離することによっても示唆され

る。不溶性の鉄生成物は、ウロン酸を含む水酸化第二鉄水和物ではないかと思われる。

【 0 0 2 8 】

次の工程は、反応が終了した後、ポリグルロン酸を含む溶液を通常の方法によって不溶性鉄生成物から分離する。そのような分離法には濾過および遠心分離がある。濾過による場合、不溶性鉄生成物はフィルター上に捕捉され、他方、ポリグルロン酸を含む溶液はフィルターをきれいに通過して容器に集められる。

【 0 0 2 9 】

次に、上の工程で得られた濾液のpHを調節し、ポリグルロン酸を選択的に沈殿させる。すなわち、反応混合液のpHを2.5以上、3.3以下に調節して、ポリグルロン酸を選択的に沈殿させる。本発明ではいかなる水溶性の酸でもpHの調節に使用できる。非酸化性の無機酸が好ましく、その例としては塩酸が挙げられる。

【 0 0 3 0 】

選択的に沈殿させた後、通常の方法によってポリグルロン酸を分離する。そのような方法としては濾過および遠心分離がある。次に、生成物は酸性にした水および／またはアルコール水溶液で洗浄する。つづいて、通常の方法によって乾燥する。

【 0 0 3 1 】

^1H NMR分析によれば、本発明の方法に従って調製されたポリグルロン酸は、重合度が20未満で、マンヌロン酸の含有量は8%より少ない。NMR分析用試料はポリグルロン酸を重水素化水酸化ナトリウム(NaOD)重水(D_2O)溶液で中和し重水に溶解することにより調製される。80° Cにおいて、ポリウロン酸中のグルロン酸とマンヌロン酸のH-1（内部）ピークは、それぞれ、内部標準である3-（トリメチルシリル）プロピオン酸ナトリウム- d_4 に対してそれぞれ5.05 ppmおよび4.67~4.70 ppmに現れる。ポリグルロン酸生成物中のマンヌロン酸不純物の量は、これら2つのピークの積分面積から計算することができる。80° Cからポリグルロン酸およびポリマンヌロン酸の α アノマーおよび β アノマーのH-1の（還元末端）ピークは、それぞれ、内部標準である3-（トリメチルシリル）プロピオン酸ナトリウム- d_4 に対してそれぞれ5.21 ppmおよび4.84~4.89 ppmに現れる。 α アノマ

ーおよび β アノマーのピークの積分値を合計したものとすべてのH-1ピークの積分値を合計したもの（ α アノマーピーク、 β アノマーピーク、内部グルロン酸のH-1ピークおよび内部マンヌロン酸のH-1ピーク）を比較することにより、ポリグルロン酸生成物の重合度を計算することができる。

【 0 0 3 2 】

【実施例】

本発明は次に挙げる具体的な実施例によってさらに明らかになる。すべての操作は換気の良いドラフト中で実施した。

【 0 0 3 3 】

（実施例 ポリグルロン酸の調製）

アルギン酸（超低粘度アルギン酸、紀文フードケミファ、日本）150 gを1000 mLビーカーに入れ、脱イオン水600 mLを加えてスラリー状にした。上部に装着した攪拌機でスラリーを攪拌しながら、このスラリーに水酸化リチウム一水和物27.65 gを加えた。アルギン酸は溶解し、pH約4.1の溶液が得られた。脱イオン水を加えて溶液の全量を750 mLに調整した。次に、攪拌しながら、31重量%の過酸化水素溶液80 gおよび消泡剤としてn-オクチルアルコール2 mLを加えた。硫酸第一鉄七水和物1.0 gを含む40 mL溶液を使用直前に調製し、それをアルギン酸/過酸化水素溶液に攪拌しながら添加した。溶液を4時間強く攪拌した。この間に発熱反応が起こり、その後静まった。次に混合液を沸騰するまで加熱し、#1ワットマン濾紙で加熱濾過した。変色域が1.3~4.4のマイクロファインpH試験紙で検査しながら、濾液にpHが2.9になるまで6N塩酸を少しずつ攪拌しながら加えた。沈殿した固体を孔径の小さい（16~40 μ m）ガラスフィルターで吸引濾過して集めた。湿った固体を脱イオン水約250 mLと共に1Lビーカーに移した。スラリーを攪拌しながら、95%エタノール 500 mLをゆっくり加えた。1時間攪拌を続けた後、固体を孔径の小さい（16~40 μ m）ガラスフィルターで吸引濾過して集めた。固体を95%エタノールで数回に分けて洗浄し、静置して風乾した。最後に、重さに変化がなくなるまで固体を真空乾燥した。生成物の収量は24 gであった。重水素化水酸化ナトリウムの重水溶液少量をマイクロシリンジで加えながら、重水0.4 mLに試料約10 mgを溶解した。 ^1H NMRスペクトルを80°Cで測定した。ポリ

ウロン酸中のグルロン酸の H-1（内部）ピークに相当するピーク、ポリウロン酸中のマンヌロン酸の H-1（内部）ピーク、 α アノマーの H-1（還元末端）ピークおよび β アノマーの H-1（還元末端）ピークを積分した。積分値を下記の表 1 に示した。このスペクトル領域を図 1 に示す。

【 0 0 3 4 】

本発明の具体的な実施例を示し説明してきたが、当業者によってさらに変更や改良が行われるであろう。それゆえ、本発明は示された特定の形態に限定されるものでなく、特許請求の範囲に記載した発明は、本発明の趣旨と範囲から逸脱することなく、すべての変形を網羅することを意図したものである。

【 0 0 3 5 】

【表 1】

プロトン	化学シフト (ppm) (3- (トリメチルシリル) プロピオン酸ナトリウム- d_4)	積分値
マンヌロン酸の H-1（内部）	4.67～4.70	57
β アノマーの H-1（還元末端）	4.84～4.89	55
グルロン酸の H-1（内部）	5.05	759
α アノマーの H-1（還元末端）	5.21	34

【 0 0 3 6 】

ポリグルロン酸生成物中のマンヌロン酸不純物の量をグルロン酸およびマンヌロン酸の H-1（内部）ピークの積分値から計算した。計算式は次の通りである

【 0 0 3 7 】

【数 1】

$$\begin{aligned}\text{マンヌロン酸不純物 (\%)} &= 100 \times 57 / (57 + 759) \\ &= 7.0\%\end{aligned}$$

α アノマーおよび β アノマーのピークの積分値を合計したものとすべての H-1 ピークの積分値を合計したもの（ α アノマーピーク、 β アノマーピーク、内部グルロン酸の H-1 ピークおよび内部マンヌロン酸の H-1 ピーク）とからポリグルロン酸生成物の重合度を計算した。計算式は次の通りである

【 0 0 3 8 】

【数 2】

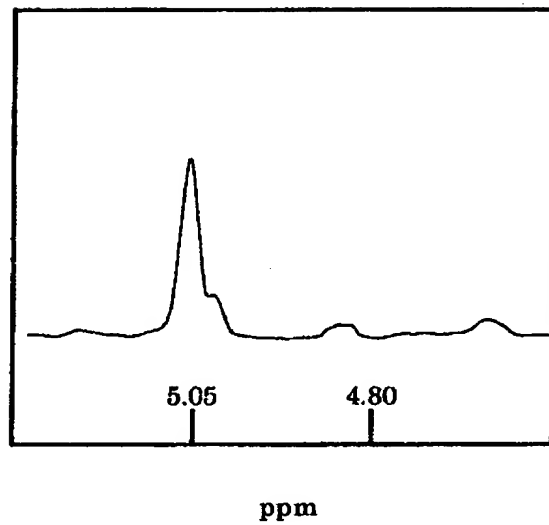
$$\begin{aligned}\text{重合度} &= (57+759+55+34) / (55+34) \\ &= 10.2\end{aligned}$$

【図面の簡単な説明】

【図 1】 80° C で測定したポリグルロン酸試料の¹H NMR スペクトルである。この図に示したスペクトルの領域には次のピークが含まれる：ポリウロン酸中のグルロン酸のH-1（内部）ピーク、ポリウロン酸中のマンヌロン酸のH-1（内部）ピーク、α アノマーのH-1（還元末端）ピークおよびβ アノマーのH-1（還元末端）ピーク。

【書類名】 図面

【図 1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 ポリグルロン酸を製造するための実用的な方法を提供すること。

【解決手段】 まず、アルギン酸を水酸化リチウムで中和することによって水に溶解し、アルギン酸を5重量%以上含む溶液を得る。第二に、前記溶液に過酸化水素および鉄塩を加えてアルギン酸を酸化する。第三に、酸化反応が終了した後、ポリグルロン酸を含む溶液を不溶性鉄生成物から分離する。第四に、前記溶液のpHを調節してポリグルロン酸を選択的に沈殿させる。最後に、通常の方法によってポリグルロン酸を分離する。NMR分析によれば、ポリグルロン酸の重合度は20未満で、マンヌロン酸の含有量は8%未満である。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000002369]

1. 変更年月日 1990年 8月20日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都新宿区西新宿2丁目4番1号

氏 名 セイコーエプソン株式会社